

Инженерная школа Природных Ресурсов  
 Направление подготовки Химическая технология  
 Отделение школы (НОЦ) им. Кижнера

### БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

Тема работы
<b>Определение флавоноидов в лекарственном растительном сырье</b>
УДК 547.972:543

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д5Б	Александров Артем Олегович		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Губа Галина Яковлевна	к.х.н., доцент		

### КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН	Рыжакина Татьяна Гавриловна	к.э.н., доцент		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ООД	Винокурова Г.Ф.	к.т.н., доцент		

### ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Михеева Е.В.	к.х.н., доцент		

## ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ ПО ООП

Код результата	Результат обучения
<b><i>Профессиональные компетенции</i></b>	
P1	Применять знания в области современных химических технологий для решения производственных задач
P2	Ставить и решать задачи производственного анализа, связанные с созданием и переработкой материалов с использованием моделирования объектов и процессов химической технологии
P3	Разрабатывать новые технологические процессы, проектировать и использовать новое оборудование химической технологии, проектировать объекты химической технологии в контексте предприятия, общества и окружающей среды
P4	Проводить теоретические и экспериментальные исследования в области современных химических технологий
P5	Внедрять, эксплуатировать и обслуживать современное высокотехнологичное оборудование, обеспечивать его высокую эффективность, выводить на рынок новые материалы, соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда на химико-технологическом производстве, выполнять требования по защите окружающей среды
P6	Применять базовые и специальные, математические, естественнонаучные, социально-экономические и профессиональные знания в профессиональной деятельности
<b><i>Универсальные компетенции</i></b>	
P7	Демонстрировать знания социальных, этических и культурных аспектов профессиональной деятельности
P8	Самостоятельно учиться и непрерывно повышать квалификацию в течение всего периода профессиональной деятельности
P9	Активно владеть иностранным языком на уровне, позволяющем разрабатывать документацию, презентовать результаты профессиональной деятельности
P10	Эффективно работать индивидуально и в коллективе, демонстрировать лидерство в инженерной деятельности и инженерном предпринимательстве, ответственность за результаты работы и готовность следовать корпоративной культуре организации



<b>Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы</b>	
<b>Раздел</b>	<b>Консультант</b>
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Рыжакина Татьяна Гавриловна
Социальная ответственность	Винокурова Галина Фёдоровна

<b>Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику</b>	
---	--

**Задание выдал руководитель / консультант:**

<b>Должность</b>	<b>ФИО</b>	<b>Ученая степень, звание</b>	<b>Подпись</b>	<b>Дата</b>
Доцент ОХИ	Губа Г.Я.	к.х.н., доцент		

**Задание принял к исполнению студент:**

<b>Группа</b>	<b>ФИО</b>	<b>Подпись</b>	<b>Дата</b>
2Д5Б	Александров Артем Олегович		

# ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСООБЪЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»

Студенту:

Группа	ФИО
2Д5Б	Александрову Артему Олеговичу

Школа	ИШПР	Отделение	Отделение химической инженерии
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	Химическая технология

<b>Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:</b>	
1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих.	Работа с информацией, представленной в российских и иностранных научных публикациях, аналитических материалах, статических бюллетенях и изданиях, нормативно-правовых документах.
2. Нормы и нормативы расходования ресурсов.	
3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования.	
<b>Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:</b>	
1. Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения научного исследования с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения.	Проведение предпроектного анализа. Определение целевого рынка и проведение его сегментирования. Выполнение SWOT-анализа проекта
2. Инициация научного проекта.	Определение целей и ожиданий, требований проекта. Определение заинтересованных сторон и их ожиданий.
3. Планирование процесса управления НТИ: структура и график проведения, бюджет, риски и организация закупок.	Составление структуры работ и календарного плана проекта. Определение бюджета НТИ.
4. Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности.	Проведение сравнительной оценки экономической эффективности научного исследования.
<b>Перечень графического материала:</b>	
1. Оценка конкурентоспособности технических решений 2. Матрица SWOT 3. График проведения и бюджет НТИ 4. Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности НТИ 5. Сравнительная эффективность разработки	

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	
--	--

**Задание выдал консультант:**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Рыжакина Т. Г.	к.э.н., доцент		

**Задание принял к исполнению студент:**

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д5Б	Александров Артем Олегович		

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
 федеральное государственное автономное  
 образовательное учреждение высшего образования  
 «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Инженерная школа природных ресурсов  
 Направление подготовки (специальность): 18.03.01 Химическая технология  
 Уровень образования бакалавриат  
 Отделение химической инженерии  
 Период выполнения \_\_\_\_\_ (осенний / весенний семестр 2018 /2019 учебного года)

Форма представления работы:

бакалаврская работа
---------------------

(бакалаврская работа, дипломный проект/работа, магистерская диссертация)

### КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН выполнения выпускной квалификационной работы

Срок сдачи студентом выполненной работы:	
--	--

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
27.02.19	Основная часть	30
22.04.19	Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	20
13.05.19	Социальная ответственность	20
20.05.19	Корректировка разделов ВКР с учетом замечаний руководителя	30

**СОСТАВИЛ:**

**Руководитель ВКР**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Губа Г.Я.	к.х.н., доцент		

**СОГЛАСОВАНО:**

**Руководитель ООП**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Михеева Е.В.	к.х.н., доцент		

## РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа изложена на 95 с., содержит 20 рисунков, 25 таблиц, 60 источников литературы.

Ключевые слова: микроволновое облучение, экстракция, лабазник вязолистный, экстрагент, УФ-спектр, флавоноиды, спектрофотометрический анализ

**Объект исследования:** лабазник вязолистный

**Предмет исследования:** методика определения флавоноидов.

**Цель работы** - определение флавоноидов в лекарственном растительном сырье.

В процессе работы проводились исследования по поиску оптимальных условий подготовки лабазника вязолистного к определению флавоноидов, в частности, по влиянию МВО на гидролиз экстрактов лабазника вязолистного. Изучено влияние мощности МВО и времени проведения гидролиза на количество определяемых в ходе анализа флавоноидов. Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшего развития методики определения флавоноидов в лекарственном растительном сырье экстракта для медицинского применения.

Руководитель: к.х.н., доцент Г.Я. Губа.

Выполнил: бакалавр группы 2Д5Б Александров А.О.

## СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЛРС – лекарственное растительное сырье

МВО – микроволновое облучение

СФ метод – спектрофотометрический метод

УФ-спектры – спектры ультрафиолетового излучения (поглощения)



## ОГЛАВЛЕНИЕ

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР .....	14
1.1 Лекарственное растительное сырье. Применение .....	14
1.2 Флавоноиды .....	17
1.2.1 Физические свойства .....	18
1.2.2 Строение флавоноидов .....	19
1.2.3 Химические свойства .....	20
1.2.4 Лекарственные флавоноиды .....	21
1.2.5 Гидролиз производных флавоноидов .....	23
1.3 Экстракция .....	25
1.4 Методы идентификации флавоноидов .....	31
1.4.1 УФ-спектроскопия .....	31
1.4.2 Другие методы идентификации флавоноидов .....	34
Химические реакции и хроматография .....	34
1.5 Методы количественного определения флавоноидов .....	42
1.5.1 Спектрофотометрический метод .....	43
1.5.2 Другие методы количественного определения флавоноидов .....	44
Глава 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ .....	46
2.1 Объекты и методы исследования .....	46
2.2 Материалы и реактивы .....	46
2.3 Метод извлечения флавоноидов .....	46
2.4 Метод проведения гидролиза гликозидов флавоноидов .....	47
2.5 Метод количественного определения флавоноидов .....	49
Глава 4. ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ .....	51
4.1 Общая характеристика НИР .....	51
4.2 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения .....	52
4.2.1 Потенциальные потребители результатов исследования .....	52

4.1.2 Анализ конкурентных технических решений.....	52
4.1.3 SWOT-анализ.....	54
4.3 Планирование научно-исследовательских работ .....	57
4.3.1 Структура работ в рамках научного исследования .....	57
4.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ .....	58
4.3.3 Разработка графика проведения научного исследования .....	59
4.4 Бюджет научно-технического исследования (НТИ) .....	64
4.4.1 Расчет материальных затрат НТИ.....	64
4.4.2 Расчет затрат на оборудование для научно-экспериментальных работ .....	64
4.4.3 Расчет основной заработной платы .....	65
4.4.4 Отчисления во внебюджетные фонды (социальные отчисления) ...	67
4.4.5 Накладные расходы .....	68
4.4.6 Формирование бюджета затрат НТИ.....	68
4.5 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования..	69

## ВВЕДЕНИЕ

Лекарственное растительное сырье и препараты на его основе на сегодняшний день играют важную роль в фармакотерапии многих хронических и вялотекущих заболеваний человека. Фитопрепараты составляют примерно 25 % от общего количества зарегистрированных лекарственных средств на 2017 год [1].

Биологическое действие фитопрепаратов основано на активности следующих групп БАВ: представителей фенольных соединений, таких как флавоноиды, ксантоны, кумарины и других групп [4].

Наиболее распространённой проблемой является подбор физико-химических методов анализа и поиска основных методов выделения и концентрирования флавоноидных комплексов в различных растительных объектах [5].

Спектрофотометрическое определение по максимумам собственного поглощения в разновидности прямой или дифференциальной спектрофотометрии является одним из наиболее распространённых методов анализа флавоноидных соединений. Метод УФ-спектрофотометрии суммарного определения флавоноидов основан на образовании окрашенного в интенсивно жёлтый цвет комплекса флавоноида с  $AlCl_3$ . [7]

Недостатком существующих методик является большая длительность проведения анализа.

Изучение и совершенствование методики определения флавоноидов с помощью спектрофотометрического анализа представляет значительный интерес в условиях возрастающей потребности в данном виде лекарственного сырья.

Целью данной работы является оптимизация методики определения количественного содержания флавоноидов в экстрактах растительного сырья.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие **задачи**:

- Изучить влияние МВО на скорость проведения реакции гидролиза производных флавоноидов в кислой среде;
- Изучить влияние мощности МВО на эффективность проведения количественного анализа флавоноидов;
- Исследовать кинетику проведения реакции гидролиза производных флавоноидов в кислой среде;
- Изучить кинетику комплексообразования хлорида алюминия (III) с экстрактом флавоноидов после гидролиза.

Научная новизна работы.

- Впервые исследовано влияние МВО на скорость проведения гидролиза и установлено, что время проведения гидролиза в условиях МВО уменьшается от 8 до 24 раз;
- Исследовано влияние времени проведения гидролиза в условиях МВО на количество определяемых флавоноидов в лекарственном растительном сырье и установлено, что оптимальной мощностью для проведения гидролиза следует принять мощность в 360 Вт;
- Исследована кинетика проведения реакции гидролиза в условиях МВО и доказано, что реакция гидролиза начинает протекать со второй минуты
- Изучена кинетика комплексообразования хлорида алюминия (III) с экстрактом флавоноидов после гидролиза с МВО и установлено, что использование МВО увеличивает количество определяемых флавоноидов на 10-25 процентов.

Практическая ценность.

Разработка и внедрение гидролиза флавоноидов из экстракта лабазника вязолистного в условиях микроволнового облучения может стать незаменимой технологией в развитии отечественного фармацевтического производства. Показано, что гидролиз в МВО в отличие от традиционного нагрева имеет больше преимуществ. К ним относятся экологичность и экономичность благодаря меньшему использованию синтетического и органического химического вещества, короткому сроку эксплуатации, более высокому выходу и хорошему качеству гидролизованного экстракта.

# 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

## 1.1 Лекарственное растительное сырье. Применение

Лекарственное растительное сырье — свежие или высушенные растения, либо их части, используемые для производства лекарственных средств организациями-производителями лекарственных средств или изготовления лекарственных препаратов аптечными организациями, ветеринарными аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность.

Фармацевтическая субстанция растительного происхождения — стандартизированное лекарственное растительное сырье, а также вещество/вещества растительного происхождения и/или их комбинации, продукты первичного и вторичного синтеза растений, в том числе, полученные из культуры растительных клеток, суммы биологически активных веществ растений, продукты, полученные путем экстракции, перегонки, ферментации или другим способом переработки лекарственного растительного сырья, и применяемые для профилактики и лечения заболеваний.

Лекарственный растительный препарат — лекарственный препарат, произведенный или изготовленный из одного вида лекарственного растительного сырья или нескольких видов такого сырья и реализуемый в расфасованном виде во вторичной (потребительской) упаковке.

Лекарственное растительное сырье может быть представлено различными морфологическими группами: трава, листья, цветки, плоды, семена, кора, почки, корни, корневища, луковицы, клубни, клубнелуковицы и другие.

По измельченности лекарственное растительное сырье может быть:

- цельное;

- измельченное;
- порошок.

Различают лекарственное растительное сырье по наличию основных групп биологически активных веществ, используемых для стандартизации лекарственного растительного сырья, например, сырье, содержащее флавоноиды, сердечные гликозиды, алкалоиды, антраценпроизводные, дубильные вещества и др.

По назначению лекарственное растительное сырье разделяют на сырье:

- используемое для производства лекарственных растительных препаратов (например, измельченные в пачках цветки, порошок в фильтр-пакетах);
- используемое для изготовления лекарственных растительных препаратов (например, настоев, отваров) [8].

Основным фактором повышения интереса к лечебным свойствам лекарственных растений явилось то, что значительной части синтетических сильнодействующих препаратов присущи различные нежелательные, даже опасные побочные эффекты. Особенно чувствительны к нежелательным эффектам синтетических лекарств люди пожилого возраста, больные хроническими заболеваниями и дети.

По составу фитопрепараты делятся на пять групп: лекарственное растительное сырье (в том числе сборы), экстракционные препараты (экстракты, настойки), высокоочищенные препараты, препараты индивидуальных веществ, а также комбинированные препараты (в данных препаратах содержатся БАВ, как растительного, так и синтетического происхождения) [1].

Наиболее привлекательными чертами фитопрепаратов являются: возможность длительного применения, высокая безопасность при достаточной эффективности, простота приготовления и применения [2].

Объем российского производства растительных экстрактов с 2016 года имеет положительную динамику, по итогам 2017 года его значение составило 451,2 тонн. Производственные мощности сконцентрированы преимущественно в Сибирском и Северо-Западном ФО. Вместе с тем, на рынке растительных экстрактов преобладает продукция импортного производства: в 2017 году на нее пришлось около 82%. При этом объем российского рынка потребления растительных экстрактов в 2017 году составил 1566,3 тонн. Такой темп роста объясняется ростом спроса на экстракты со стороны производителей БАД, лекарственных средств и косметической продукции на фоне общемирового тренда повышения интереса к фитотерапии, «экологичным» продуктам и образу жизни в целом.

Если проанализировать рынок фитопрепаратов, можно отметить, что фитопрепараты наиболее часто встречаются в следующих фармакотерапевтических группах: пищеварительный тракт и обмен веществ, нервная система, дыхательная система, противоопухолевые и иммуномодулирующие препараты, а также сердечно-сосудистая система. По данным Росстата [9], заболевания данных систем организма относятся к наиболее часто встречающимся и соответственно препараты, направленные для лечения данных систем организма постоянно востребованы.

Наиболее часто встречающиеся ЛФ среди ФП: таблетки, капсулы, настойки, растворы, трава, листья и сборы. Стоит выделить группу фитопрепаратов в виде «Препараты индивидуальных веществ», которая занимает около 2,4 % (от всего количества зарегистрированных в России), и,



что более значимо, относится к группе жизненно-важных препаратов, которые используются для лечения онкологических заболеваний [1].

## 1.2 Флавоноиды

Флавоноиды - крупнейший класс растительных полифенолов. С химической точки зрения, флавоноиды представляют собой гидроксипроизводные флавона (собственно флавоноиды), 2,3-дигидрофлавона (флаваноны) изофлавона (изофлавоноиды), 4-фенилкумарина (неофлавоноиды), а также флавоны с восстановленной карбонильной группой (флаванолы). Зачастую к флавоноидам относят и другие соединения C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> ряда, в которых имеются два бензольных ядра, соединенных друг с другом трёхуглеродным фрагментом — халконы, дигидрохалконы и ауроны [10].

Флавоноиды относятся к естественным гетероароматическим соединениям, которые являются продуктами вторичного метаболизма тканей растений. Очевидно, что данный класс БАВ, насчитывающий до 10000 зарегистрированных представителей, отличается большим структурным разнообразием и обладает высокой ценностью как предмет изучения [4].

Термин «флавоноид» был предложен в 1949 году английским ученым Гейссманом более века спустя после выделения первого флавоноида кверцетина (*Quercus*) не только для флавонов — веществ желтого цвета, но и для других соединений флавоноидной природы, имеющих иную окраску — белую или бесцветную (флаваноны), оранжевую (ауроны, халконы), красную, малиновую, синюю (антоцианы) [22].

### 1.2.1 Физические свойства

Лейкоантоцианидины, кайтехины, флаванолы, изофлавоны — бесцветные; флаванолы, флавоны, флавонолы — желтые; халконы и аурины — оранжевые; антоцианидины в зависимости от реакции среды красные, синие или фиолетовые аморфные или кристаллические вещества, без запаха, горького вкуса, с определенной температурой плавления (гликозиды — 100-180 °С, агликоны — до 300 °С).

Гликолизированные формы флавоноидов, катехины и лейкоантоцианидины хорошо растворимы в воде, этаноле и метаноле различной концентрации, нерастворимы в органических растворителях (диэтиловом эфире, хлороформе, ацетоне). Свободные агликоны, за исключением катехинов и лейкоантоцианидинов, нерастворимы в воде, но хорошо растворимы в этаноле, метаноле и других органических растворителях (диэтиловом эфире, хлороформе, ацетоне). Все флавоноиды хорошо растворимы в пиридине, диметилформамиде и щелочах [21].

Одна из характерных особенностей флавоноидных гликозидов — способность к кислотному и ферментативному гидролизу. Скорость гидролиза и условия его проведения различны в зависимости от строения флавоноидов. Так, 19 флавонол-3-гликозиды легко гидролизуются при нагревании со слабыми растворами минеральных кислот (0,1-2%), а 7-О-гликозиды флавонов (цинарозид) гидролизуются в жестких условиях — при нагревании в течение 2 часов с 5-10% минеральными кислотами. Напротив, 5-О-гликозиды гидролизуются мгновенно даже слабыми кислотами, причем без нагревания (трицин-5-О-глюкозид). Флавоноиды подвержены ферментативному гидролизу, например, глюкозиды (за небольшим исключением) довольно легко расщепляются 3-глюкозидазой. Особую

группу составляют так называемые С-гликозиды (например, витексин), которые расщепляются только с использованием смеси Килиани (смесь ледяной уксусной кислоты, концентрированной HCl и воды в соотношении 55:35:10) при нагревании на водяной бане в течение 2-3 часов [22].

Все флавоноиды оптически активны, способны флуоресцировать в УФ-свете, имеют характерные УФ-спектры, характеризующиеся наличием двух максимумов поглощения, и ИК-спектры [21].

### 1.2.2 Строение флавоноидов

Большинство флавоноидов имеет фенил-хрома(е)новую структуру, которая состоит из двух бензольных колец (А и В), соединенных между собой пирановым или пиррольным гетероциклом (кольцо С).

В зависимости от наличия или отсутствия С<sub>4</sub> карбонильной группы, С<sub>2</sub>-С<sub>3</sub> двойной связи, количества и положения гидроксильных групп, а также по характеру присоединения кольца В к С<sub>2</sub> или С<sub>3</sub> атому углерода, флавоноиды принято подразделять на 10-13 подклассов, основными из которых являются флавоны и их производные, дигидрофлавонолы, флаваны и их производные, флаван-диолы, а также халконы [11-13].

Химическая классификация флавоноидов основана на трех основных признаках:

- степень окисленности кольца С или пропанового фрагмента;
- величина гетероцикла (С);
- положение бокового фенила [22].

### 1.2.3 Химические свойства

Химические свойства обусловлены особенностью строения флавоноидов: наличием ароматических, пиранового или пиронового колец, функциональных групп.

1. Гликозиды подвергаются ферментативному и кислотному гидролизу до агликонов и сахаров. О-гликозиды гидролизуются более или менее легко при действии разбавленных минеральных кислот и ферментов. С-гликозиды с трудом расщепляются только в жестких условиях при действии крепких кислот (кислоты концентрированные хлористоводородная или уксусная) или их смесей (смесь Килиани) при длительном нагревании.
2. Благодаря кольцам А и В флавоноиды способны:
  - образовывать комплексные соединения с солями металлов (железа, алюминия, циркония). С солями железа — в зависимости от количества гидроксильных групп от зеленой и синей до коричневой окраски; с солями алюминия — желтой окраски, с желто-зеленой флуоресценцией;
  - вступать в реакцию азосочетания с солями диазония с образованием азокрасителей.
3. Флавоноиды, содержащие пироновый цикл (флавоны и флавонолы), способны:
  - восстанавливаться в кислой среде атомарным (свободным) водородом, полученным в результате реакции взаимодействия кислоты с металлическим магнием или цинком, до антоцианидинов (проба Шинода, или цианидиновая проба);
  - растворяться в щелочах с образованием растворимых в воде фенолятов.

4. Флавоноиды, содержащие пирановый цикл (катехины, лейкоантоцианидины), способны легко окисляться до производных флавона и флавонола.
5. Флавоноиды при сплавлении в жестких условиях со щелочью распадаются на составные части, что используется для установления их структуры.

Физические и химические свойства используются в анализе сырья на подлинность и доброкачественность.

#### 1.2.4 Лекарственные флавоноиды

Флавоноиды известны как растительные пигменты более столетия. Однако первая работа, посвящённая возможной биологической роли флавоноидов для человека, была опубликована лауреатом Нобелевской премии по физиологии или медицине Альбертом де Сент-Дьёрди в 1936 году. Он сообщил, что флавоноид, выделенный из венгерского красного перца, вероятно, способствует укреплению ломких стенок кровеносных сосудов. Он предположил, что это соединение относится к витаминам, и предложил для него название «витамин Р», которое в дальнейшем не прижилось. Новая волна интереса к флавоноидам началась в 1990-х годах. Она связана с открытием антиоксидантных свойств флавоноидов и их способности нейтрализовать свободные радикалы [14].

Флавоноиды – самая распространенная группа биологически активных соединений. Им присуща высокая биологическая активность, обусловленная присутствием в молекуле фенольных гидроксильных и карбонильных групп, которые, подвергаясь различным биохимическим изменениям, принимают участие в ряде физиологических процессов. Флавоноиды оказывают

мочегонное, антимикробное, противовоспалительное, противоопухолевое, капилляроукрепляющее действие [15].

Перспективными для изучения и внедрения являются фитопрепараты ноотропного действия, однако, представленные на отечественном рынке «Гинсана» (Pharmaton, Швейцария) и «Танакан» (Beaufour Ipsen, Франция) значительно дороже синтетических, что указывает на актуальность поиска и разработки отечественных ноотропных средств растительного происхождения, отвечающих требованиям фармакоэкономики с точки зрения эффективности, безопасности и себестоимости курса лечения. В этом аспекте значительный интерес представляют виды флоры Сибири – княжик сибирский, лабазник вязолистный и лабазник обыкновенный, альфредия поникшая и альфредия снежная. Растения имеют достаточную сырьевую базу или введены в культуру, находят широкое применение в народной медицине в качестве тонизирующих и общеукрепляющих средств, при нервных заболеваниях и показали перспективность в предварительных экспериментальных исследованиях на ноотропную активность [16].

В качестве лекарственных средств применяются флавоноиды рутин и кверцетин, называемые Р-витаминами. Они обладают способностью, особенно выраженной в сочетании с аскорбиновой кислотой, уменьшать проницаемость и ломкость капилляров, тормозят свёртывание крови и повышают эластичность эритроцитов [17].

Кверцетин — природное биохимическое вещество группы флавоноидов. Входит в состав ряда биологически активных добавок (БАД) и пищевых добавок, применяется в альтернативной (нетрадиционной) медицине [18].

В опытах на клеточных культурах было показано, что флавоноидный кверцетин является сильным антиоксидантом, который также обладает противовоспалительными свойствами. В экспериментах на живых организмах были продемонстрированы его антиокислительные и противовоспалительные эффекты. Отмечают, что эти два эффекта кверцетина более выражены, когда высоки базальные уровни окислительного повреждения или воспаления, соответственно. Это указывает на то, что добавление кверцетина в пищу более продуктивно для людей, страдающих от болезней, связанных с обоими процессами, например, такими, как гипертония и саркоидоз [19].

Кверцетин подтвердил свои свойства во время испытания на старых мышах. Лекарства давали двум группам мышей: в первой были 20-месячные мыши, во второй — в возрасте от 24 до 27 месяцев. Комбинация препаратов показала значительное замедление дегенеративных процессов у первой группы и улучшение различных показателей здоровья (таких как сила и выносливость), а у более старых мышей повысила продолжительность жизни после лечения примерно на 36 % [20].

#### 1.2.5 Гидролиз производных флавоноидов

Гликозиды — органические соединения, молекулы которых состоят из двух частей: углеводного (пиранозидного или фуранозидного) остатка и неуглеводного фрагмента (т. н. агликона). В качестве гликозидов в более общем смысле могут рассматриваться и углеводы, состоящие из двух или более моносахаридных остатков. Преимущественно кристаллические, реже аморфные вещества, хорошо растворимые в воде и спирте.

Гликозиды представляют собой обширную группу органических веществ, встречающихся в растительном (реже в животном) мире и/или получаемых синтетическим путём. При кислотном, щелочном, ферментативном гидролизе они расщепляются на два или несколько компонентов — агликон и углевод (или несколько углеводов). Многие из гликозидов токсичны или обладают сильным физиологическим действием, например, гликозиды наперстянки, строфанта и другие.

Свое название гликозиды получили от греческих слов *glykys* — сладкий и *eidos* — вид, поскольку они при гидролизе распадаются на сахаристую и нес сахаристую компоненты. Чаще всего гликозиды встречаются в листьях и цветках растений, реже в других органах. В состав гликозидов входят углерод, водород, кислород, реже азот (амигдалин) и только некоторые содержат серу (синальбин, мирозин) [30].

Ввиду обычно малого содержания гликозидов в растениях, часто ограничиваются выделением не индивидуальных веществ, а их смесей в виде водных растворов, стандартизованных по биологическому действию на животных. Такие препараты получили название неогаленовых или новогаленовых. Обычно в 1 мл такого раствора содержится определённое количество гликозидов, выраженных в единицах действия (ЕД). Так, например, активность гликозидов сердечной группы выражают в лягушечьих (ЛЕД) или кошачьих (КЕД) единицах, характеризующих наименьшее количество вещества, проявляющее биологическое действие на животных. Естественно, в случае возможности выражения активности гликозидов в весовых единицах последние выражаются в граммах (или миллиграммах).



Количественное определение гликозидов имеет значение при исследовании растительного материала и главным образом лекарственного сырья.

Определение гликозидов весовым путём после извлечения его растворителями весьма затруднительно, так как необходимо предварительное его выделение из растительного материала в достаточно чистом виде. Поэтому в ряде случаев целесообразно определение количества агликона, образующегося при гидролизе. Так, количество синигрина в горчице или горчичниках определяется аргентометрически или йодометрически по количеству отщепленного и отогнанного аллилгорчичного масла.

Гликозиды, содержащие цианистый водород, также могут быть определены по количеству последнего после расщепления и отгонки.

Во многих случаях количество гликозида может быть определено на основании изменения угла вращения после ферментативного расщепления.

В некоторых случаях определяют флуоресценцию, характерную для того или иного путём сравнения с заведомо известным гликозидом [30].

### 1.3 Экстракция

Экстракция — способ извлечения вещества из раствора или сухой смеси с помощью подходящего растворителя (экстрагента). Для извлечения из смеси применяются растворители, не смешивающиеся с этой смесью. [24]

Согласно Государственной Фармакопеи 14, существует три основных метода экстракции, для каждого из которых существует отдельный метод определения содержания экстрактивных веществ — однократная экстракция, многократная экстракция, которая предполагает последовательную

обработку сырья одним и тем же экстрагентом с последующим получением суммарного экстракта, и последовательная экстракция, которая предполагает последовательную обработку сырья различными экстрагентами с определением содержания экстрактивных веществ в каждой фракции. [23]

Экстракция применяется в химической, нефтеперерабатывающей, пищевой, металлургической, фармацевтической и других отраслях, в аналитической химии и химическом синтезе. В химических производствах используются преимущественно следующие схемы экстракции; однократная экстракция, многократная экстракция с перекрестным током растворителя, многократная экстракция с противотоком растворителя, непрерывная противоточная экстракция, ступенчатая противоточная экстракция. [25]

В течение многих тысячелетий пользовались преимущественно мацерацией, то есть простым настаиванием. В настоящее время его применение постепенно сокращается, потому что при экстрагировании этим методом трудно достигнуть полноты извлечения лекарственных веществ из растительного материала. Высушенные части растения измельчают, растительную массу помещают в закрытый сосуд, заливают определенным количеством экстрагента (этиловый спирт различной концентрации) и настаивают в течение 7–10 суток при температуре 15—20° С, перемешивая несколько раз в день. После этого жидкость сливают, остаток отжимают руками или с помощью пресса, затем промывают новой порцией растворителя и снова отжимают, после чего отжатые вытяжки объединяют с основой. Метод настаивания в представленном виде имеет ряд недостатков: осуществляется в течение длительного времени; испарение экстрагента, что вызывает уменьшение объема настойки; набухшая растительная масса слеживается на дне и поднять ее со дна можно лишь с помощью мешалки.

Для устранения данных проблем используют различные приемы – такие, как динамическая мацерация, направленная на циркуляцию спирта, деление сырья на порции, вихревое перемешивание растительной массы, применение специальной центрифуги и обработка ультразвуком [26]

Перколяция – промышленный способ, который заключается в непрерывной фильтрации экстрагента через слой извлекаемого сырья. При этом извлекаемые вещества переходят из сырья в экстрагент в результате их растворения и диффузии. Сначала высушенный и измельченный исходный материал заливают небольшим количеством спирта и настаивают в течение 4–6 часов (за это время осуществляются капиллярная пропитка сырья экстрагентом и образование концентрированного сока). Затем его разделяют на порции, укладывают в перколятор, снова заливают спиртом и оставляют на 1-2 суток. По окончании настаивания открывают нижний, спускной кран перколятора и одновременно сверху подают экстрагент, таким образом, чтобы из перколятора за 1 час поступала вытяжка равная  $1/24$  или  $1/48$  части рабочего объема перколятора. При этом насыщенная вытяжка вытесняется из растительного материала током свежего экстрагента и создается разность концентрации экстрагируемых веществ в сырье и экстрагент. Скорость перколяции должна быть такой, чтобы успевала произойти диффузия экстрагируемых веществ в вытяжку. При изготовлении настоек перколирование заканчивают получением пяти или десяти объемов (в зависимости от свойств сырья) вытяжке по отношению к массе загруженного сырья. Полученные настаиванием или перколяцией вытяжки требуют обязательной очистки [27]

Экстракция флавоноидов

Для полного извлечения разнообразных БАВ из растительного сырья в последнее время используют экстракцию системой несмешивающихся растворителей различной полярности – двухфазной системой экстрагентов. Наиболее важной особенностью так называемой «двухфазной экстракции», отличающей ее от других применяемых методов экстрагирования, является то, что за одну технологическую стадию из лекарственного растительного сырья извлекается комплекс липофильных и гидрофильных БАВ. Смесь при экстрагировании двухфазным экстрагентом представляет собой трехфазную систему – гидрофобный растворитель-вода-шрот. Но поскольку твердая фаза – шрот – присутствует при любом способе экстрагирования, а существенным отличием рассматриваемого способа является применение именно двухфазного жидкого экстрагента, то такой способ переработки сырья называют двухфазной экстракцией. Чаще всего для экстракции используют смесь какого-либо полярного растворителя – вода, низшие спирты и их водные растворы и растительных масел. При этом в экстракт извлекается комплекс биологически активных веществ. Поэтому такой вариант экстракции удобен в технологии суммарных экстрактов. Однако при необходимости получения сухого экстракта из растительного сырья использование растительного масла в качестве гидрофобной фазы является препятствием, так как бывает сложно отделить спиртовую и масляную фазы из-за образования устойчивой эмульсии. [28]

Для выделения флавоноидов проводят экстракцию растительного материала, как правило, одним из низших спиртов. Спиртовое извлечение упаривают, к остатку добавляют горячую воду и после охлаждения удаляют неполярные соединения (хлорофилл, жирные масла, эфирные масла и др.) из водной фазы хлороформом или четыреххлористым углеродом. Флавоноиды из водной

фазы извлекают последовательно этиловым эфиром (агликоны), этилацетатом (в основном монозиды) и бутанолом (биозиды, триозиды и т. д.). Для выделения отдельных флавоноидов существуют специфические методы. Так, для выделения рутина из бутонов софоры японской экстракцию проподят горячей водой. При охлаждении водных извлечений рутин выпадает в осадок, его отфильтровывают и очищают перекристаллизацией из спирта. [29]

### Экстракция флавоноидов в присутствии ПАВ

Создание препаратов на основе максимально полного природного комплекса БАВ лекарственных растений представляется перспективным и актуальным направлением исследований.

Введение ПАВ в двухфазную систему экстрагентов может существенно повлиять на ее экстракционные свойства. Можно предположить, что в этом случае расширится спектр извлекаемых веществ и возрастет их количество, т.к., в процессе эмульгирования в присутствии ПАВ снижается поверхностное натяжение, а также возрастает поверхность раздела фаз, через которую осуществляется массоперенос липофильных БАВ.

Растворители, используемые в составах лекарственных и косметических средств (ДМСО, ПЭО 400, ПГ, их смеси с водой), обладают высокой экстрагирующей способностью по отношению к флавоноидам. Использование исследованных экстрагентов позволяет получать вытяжки, которые без удаления растворителей можно вводить в состав мягких лекарственных форм и косметических кремов. ДМСО как экстрагент проявляет монотонное возрастание экстракционной способности по отношению и к флавоноидам, и к АП по мере увеличения его концентрации в

водных растворах. По-видимому, это объясняется высокими растворяющими свойствами ДМСО, а также его способностью диффундировать в клетку и десорбировать БАВ. Однако характер сольватации растительного сырья и десорбции БАВ для ДМСО носят иной характер, чем для спирта, т.к. ДМСО является апротонным растворителем. Поэтому суммарная экстракционная способность ДМСО не превышает таковой для водных растворов ПГ и ПЭО 400. [31].

#### Экстракция в условиях микроволнового облучения

Один из эффективных способов экстракции растительных материалов – микроволновая обработка в сверхвысокочастотном (СВЧ) поле. За СВЧ-излучение принимают участок электромагнитного спектра с частотами колебаний от 30 МГц до 3000 ГГц, (длина волны от 10 м до 0,1 мм). [33]

Экстракция с применением микроволнового поля позволяет достичь высоких степеней извлечения за более короткое время (15 – 30 мин), при этом расход растворителей значительно сокращается. Выигрыш во времени достигается за счет увеличения температуры кипения растворителя, что позволяет повысить температуру проведения реакции, а также постоянного перемешивания. Более точный контроль за параметрами реакции (температура, время) позволяет получать более воспроизводимые результаты. Кроме того, микроволновая экстракция позволяет выделять из анализируемых проб большее число компонентов, что делает анализируемую пробу более представительной. [32]

Нагревание при использовании метода микроволнового облучения происходит по двум причинам: электрическая компонента микроволн ускоряет движение молекул, обладающих дипольным моментом, а

напряженность магнитного поля, создаваемого микроволнами, способствует колебательным движениям молекул, обладающих дипольным моментом. Межмолекулярное трение приводит к поглощению электромагнитного излучения и увеличению температуры вещества.

Большое влияние на процесс экстракции оказывает диэлектрическая постоянная  $\epsilon'$  растворителя. В полярных экстрагентах (с высокой диэлектрической постоянной) хорошо растворяются вещества, имеющие в своем составе полярные молекулы, а в неполярных экстрагентах – вещества с неполярными молекулами [33].

#### 1.4 Методы идентификации флавоноидов

Для выделения флавоноидов проводят экстракцию растительного материала, как правило, этиловым, метиловым спиртом или водными спиртами (чаще всего, это 70% спирт как один из оптимальных экстрагентов).

Идентификацию флавоноидов проводят основываясь на их физикохимических свойствах. Проводят определение температуры плавления, удельного вращения гликозидов, сравнение УФ-, ИК-, масс ПМР-спектров со спектрами известных образцов.

##### 1.4.1 УФ-спектроскопия

Спектрофотометрическое определение по максимумам собственного поглощения в разновидности прямой или дифференциальной спектрофотометрии является одним из наиболее распространенных методов анализа флавоноидных соединений. За последнее время накоплен большой материал по УФ-спектроскопии флавоноидных соединений, с помощью которого возможна идентификация не только основной структуры

флавоноидов, но и установление количества и положения гидроксильных групп и остатков сахаров.

Спектрофотометрический метод анализа базируется на избирательном поглощении монохроматического света раствором исследуемых веществ. Поглощение обусловлено электронными переходами с орбиты донорного заместителя на вакантную орбиту бензольного кольца или акцепторного заместителя.

Для флавоноидов в УФ-спектре характерны две интенсивные полосы поглощения в длинноволновой области 320-380 нм (I полоса) и в коротковолновой 240-270 нм (II полоса), а для флавонолов 350-390 нм и 250-270 нм соответственно, дополнительный максимум при 300 нм. Расстояние между основными максимумами более или менее постоянно и для флавонолов составляет 93-125 нм, что может служить отличительным признаком.

Спектральные исследования спиртовых растворов флавоноидных соединений показывают, что гидроксильные группы оказывают значительное bathochrome к гипсохромное влияние на максимумы поглощения в зависимости от их положений. Наибольшее влияние оказывают оксигруппы, сопряженные с карбонилом, другие группы имеют вспомогательное значение. Поэтому при снятии УФ-спектров используют различные реагенты, оказывающие влияние на хромофорную систему флавоноидов, что проявляется в виде bathochromных или гипсохромных сдвигов основных максимумов поглощения. Рабочими диапазонами длин волн служат как длинноволновые, так и коротковолновые максимумы. В качестве ионизирующих и комплексообразующих добавок достаточно широко



применяют этилат натрия, ацетат натрия, ацетат натрия с борной кислотой, хлористый алюминий и хлористый цирконил с лимонной кислотой.

При наличии гидроксильной группы в положении С-7 наблюдается батохромный сдвиг I полосы под действием ацетата натрия.

У флавонов и флавонолов свободная гидроксильная группа в 4-положении устанавливается в присутствии этилата натрия по батохромному сдвигу первой полосы на 40-64 нм без уменьшения интенсивности. Гидроксильная группа в положении С-3 у флавонолов при отсутствии гидроксила у С-4" также вызывает батохромию первой полосы на 50-60 нм, но уже с понижением интенсивности. Если присутствуют гидроксильные группы у С-3 и С-4" одновременно наблюдается гипсохромный сдвиг, что обусловлено окислением и разрушением в щелочной среде 4"-оксифлавонолов. Орто-диоксильная группировка в боковом фенильном радикале устанавливается по батохромному сдвигу первой полосы в присутствии безводного ацетата натрия с борной кислотой на 25 нм. Хлористый алюминий и соли цирконила позволяют определить свободные гидроксильные группы в положении С-3 и С-5 по батохромию 1 полосы. Если при добавлении лимонной кислоты батохромный сдвиг исчезает, то что обусловлено 5-оксигруппой. Устойчивый сдвиг к лимонной кислоте оказывает на свободную гидроксильную группу в 3 положении. Свободные гидроксилы при С-3 и С-5 вызывают удвоенный батохромный сдвиг 1 полосы под действием хлористого цирконила, достигающий 100 нм и более. Флавонолы в присутствии алюминия хлорида и соляной кислоты вызывают батохромию первой полосы на 50-60 нм, а сдвиг второй полосы на 20-26 нм.

#### 1.4.2 Другие методы идентификации флавоноидов

##### Химические реакции и хроматография

Для получения предварительной информации о структурных особенностях выделенных флавоноидных соединений используют химические методы анализа. Флавоноиды обнаруживают по качественным реакциям.

1. Цианидиновая проба или проба Шинода (Chinoda). Флавонолы, флаваноны и флавоны при восстановлении магнием в присутствии соляной кислоты (конц.) дают красное или оранжевое окрашивание, обусловленное образованием антоцианидинов.
2. Цианидиновая проба по Брианту (продолжение первой реакции). При последующем разбавлении содержимого пробирки водой и добавлении октилового или бутилового спиртов малиновая окраска в случае агликоновой природы флавоноидов переходит в органическую (верхняя фаза), а при исследовании гликозидов флавоноидов остается в водной фазе (флавилевые пигменты гликозидов растворяются в воде).
3. Реакция с алюминием хлоридом. Флавоноиды с 1 - 2% спиртовым раствором алюминия хлорида образуют окрашенные соединения (желтая, зеленая окраска), имеющие желто-зеленую флуоресценцию при длине волны 366 нм (батохромный сдвиг). Следует отметить, что в образовании батохромного комплекса прежде всего принимают участие свободные 3- и 5-ОН -группы флавоноидов. Данная реакция довольно специфична и часто используется в методиках количественного определения.

Подобные комплексные соединения, окрашенные в желтый или красный цвет, флавоноиды дают и с солями других тяжелых металлов (свинец, сурьма, бериллий и др.), но данные реакции большого практического

значения с точки зрения фитохимического анализа не имеют (за исключением хлорокись циркония).

4. Борно-лимонная реакция (реакция Вильсона). 3- и 5-гидроксифлавоны и 3- и 5-гидроксифлавонолы взаимодействуют с борной кислотой в присутствии лимонной (или щавелевой) кислоты, образуя ярко-желтое окрашивание с желтовато-зеленой флуоресценцией (образование батохромного комплекса), в случае участия в реакции 3-ОН-группы образуется устойчивый пятичленный комплекс, который не разрушается при добавлении лимонной или щавелевой кислот. Флавоноиды, имеющие свободную 5-ОН-группу также дают положительную реакцию, но образуемый при этом шестичленный комплекс после добавления соответствующих органических кислот разрушается (окраска и флуоресценция исчезают).

5. Реакция с хлористым цирконием ( $\text{ZnOCl}_2$ ) (Реакция Хензеля-Хьерхаммера). В результате этой реакции появляется ярко-желтая окраска и желто-зеленая флуоресценция. По аналогии с реакцией Вильсона, при добавлении к содержимому пробирки нескольких кристаллов лимонной кислоты желтая окраска исчезает, если в качестве продукта реакции выступал неустойчивый 23 шестичленный комплекс.

6. С раствором аммиака флавоны, флаваноны, флавонолы и флаванолы дают желтое окрашивание, переходящее при нагревании в оранжевое или красное. В случае халконов и ауранов тотчас же образуется красное или пурпурное окрашивание. Чистые катехины окраски не дают, однако присутствие даже в небольшом количестве примесей (продуктов окисления) вызывает появление желтой окраски. Антоцианы при наличии

аммиака или карбоната натрия дают синее или фиолетовое окрашивание. Эту реакцию можно проводить с парами аммиака при использовании хроматографии на бумаге. Темно-коричневые пятна гликозидов флавонов и флаванолов (при осмотре в УФ свете) при обработке парами аммиака приобретают желто-зеленую флуоресценцию.

7. Реакция с едкими щелочами (NaOH, KOH). При использовании слабых растворов щелочей(1-2%) реакция идет с образованием халконов (разрывается 1-2 связь производных флаванона и флавона). В случае обработки флавоноидов 30% раствором щелочи наблюдается глубокая деструкция молекулы с образованием соответствующих артефактов (из кверцетина, например, образуется протокатеховая кислота и флороглюцин).

8. Флавоноиды, содержащие свободные ароматические OH-группы реагируют с диазореактивом (диазотированная сульфаниловая кислота, диазобензосульфокислота в щелочной среде) с образованием окраски различных оттенков (лимонно- желтой, оранжевой и др.) Данная реакция иногда используется в методиках количественного определения флавоноидов.

9. Реакция с треххлорным железом. Флавоноиды с 1% спиртовым раствором  $FeCl_3$  дают коричневую (3-OH-группа) или зеленую (5-OH-группа) или синюю (3 4 5 OH-группы) окраски.

10. Флавоноиды с минеральными кислотами концентрированными образуют оксониевые соли (ярко-желтое или ярко-оранжевое окрашивание).

11. Катехины с 1% раствором ванилина в концентрированной HCl образуют красно-малиновое окрашивание (производные флороглюцина и резорцина).

12. Флавоноиды в зависимости от строения имеют различную флуоресценцию, чаще всего желто-зеленую (агликоны) или темнокоричневую (гликозиды). Аномально ведут себя 5-О-гликозиды флавоноидов, для которых характерна ярко-голубая флуоресценция (флавоноиды хвоща полевого). Качественные реакции в настоящее время применяют в сочетании с хроматографическими методами.

Качественные реакции в настоящее время применяют в сочетании с хроматографическими методами.

Рядом исследователей показано, что существует определенная зависимость между химическим строением флавоноидов и хроматографическим поведением, Основные закономерности сводятся к следующему:

1. Величина  $R_f$  снижается с увеличением гидроксильных групп в молекуле.

2. Метилирование гидроксильных групп вызывает повышение величины  $R_f$  агликонов.

3. Гликозидирование обуславливает понижение величины  $R_f$ . Образование биозида приводит к меньшему снижению величины  $R_f$ , чем образование дигликозида.

4. Ацетилирование может способствовать как повышению, так и понижению  $R_f$ .

5. Орто- и вициальные положения заместителей приводят к исключению из данных правил в сторону увеличения  $R_f$ .

Чаще всего при анализе флавоноидных соединений используют бумажную или тонкослойную хроматографию.

Пятна флавоноидов на хроматограммах, как правило, не окрашены или имеют очень слабую окраску и поэтому недостаточно хорошо просматриваются в видимой области спектра. Для повышения чувствительности и избирательности методик хроматографического анализа применяют реактивы, способные образовывать окрашенные соединения и флуоресцировать при просматривании в УФ-свете.

Тонкослойная и бумажная хроматография с использованием проявляющих реактивов позволяет ориентировочно установить структуру агликонов флавоноидов и определить расположение гидроксильных групп у C-3, C-5, C-7, C-8, а также наличие диоксигруппировки в боковом фенильном радикале. При хроматографировании в тонких слоях 3-монозиды флавоноидов могут быть отделены от 3-биозидов, а последние - от 3,7-дигликозидов.

Для обнаружения гликозидов и агликонов используют спиртовой раствор алюминия хлорида, хлористый цирконил с лимонной кислотой, раствор едкого калия, раствор треххлористой сурьмы в четыреххлористом углероде, 1% ванилин в конц. соляной кислоте, раствор железоаммонийных квасцов, пары аммиака и другие.

Для обнаружения сахаров применяют анилин-фталатный реактив.

Хроматографирование проводят в следующих системах растворителей: бутанол-уксусная кислота-вода, 15% уксусная кислота, бензол-уксусная

кислота-вода, уксусная кислота-соляная кислота-вода, этилацетат-муравьиная кислота-вода и другие. Как уже отмечалось, наряду с бумажной широко применяется и тонкослойная хроматография. В качестве сорбентов используют порошок целлюлозы в смеси с гипсом, силикагель, капрон и ацетилованный полиамид, магнезол. кремневую кислоту, поливинилпирролидон, полиакрилонитрил.

Для получения хроматограмм применяют следующие системы растворителей: уксусная кислота-муравьиная кислота-вода(10:2:3), бутанолуксусная кислота-вода(4:1:5), хлороформ-ацетон-метанол(36:1:1), хлороформацетон-метанол-гептан(36:1:1:1), 15% уксусная кислота, м-крезол-уксусная кислота-вода(50:2:48) и другие. Для хроматографии более гидрофобных соединений (флавонов, изофлавонов) основными компонентами смеси являются липофильные растворители: бензол, толуол, хлороформ в смеси с ацетоном, спиртами (этанол, метанол), с простыми и сложными эфирами, для гликозидов и флавонолов - этилацетат, насыщенный водой в комбинации с кислотой или спиртом.

Идентификацию флавоноидов проводят по значению  $R_f$  с помощью "свидетелей". Следует обратить внимание на то, что из-за различий в бумаге, растворителях и в других условиях идентификация методами бумажной и тонкослойной хроматографии требует непосредственного сравнения с достоверными образцами на том же листе бумаги или пластины и использования нескольких систем растворителей и реагентов для опрыскивания.

Флавонолы и 7-гликозиды флавоноидов, как правило, имеют желтую окраску пятен на хроматограммах при просматривании в УФ-свете, а флавоны,

флаваноны и гликозиды - бурую или коричневую окраску, ксантоны - оранжевую, изофлавоноиды в данных условиях не проявляются. 28 Для отличия агликонов и гликозидов необходимо проводить параллельное хроматографирование в системе хлороформ-уксусная кислота-вода (13:6:1) и в системе 15% уксусной кислоты.

### ИК-спектроскопия

При анализе флавоноидных соединений широко используются спектральные исследования в ИК-области для установления и подтверждения строения молекул веществ. ИК-спектроскопия позволяет также определить конфигурацию и конформацию молекул.

ИК-спектры обусловлены колебанием атомов молекулы. При этом колебания имеют различную энергию и могут быть направлены вдоль валентной связи между атомами. Колебания всех атомов молекулы обуславливают полосы поглощения индивидуальные для данного вещества.

В основном для целей идентификации служит область "отпечатков пальцев" (1400-650 см<sup>-1</sup>). Эта область чаще всего используется для установления подлинности путем эмпирического сравнения ИК-спектров исследуемого и известного соединений. Наличие функциональных групп в молекуле флавоноида устанавливают по характерному поглощению в определенной области спектра. Так, установлено, что в ИК-спектрах флавоноидов незамещенная карбонильная группа флаванона поглощает при 1660-1690 см<sup>-1</sup>. Валентные колебания C=O группы Флавонолов находятся в области 1637-1650 см<sup>-1</sup>.

Наличие в 'положении C-7 гидроксильной группы понижает частоту валентных колебаний этой группы на 15-10 см<sup>-1</sup>. Образование водородной



связи между группами C=O и OH в положении C-5 объясняет снижение значения частоты C=O до 1640 см<sup>-1</sup>.

Валентные колебания двойных связей проявляются в виде нескольких интенсивных полос поглощения в области 1600-1470 см<sup>-1</sup>. Колебания СН-группы ароматических колец с двойной связью, сопряженной с C=O, проявляются в области 3130-3110 см<sup>-1</sup>.

Свободные алифатические гидроксильные группы поглощают в интервале 3625-3600 см<sup>-1</sup>. А фенольные гидроксилы агликона определяются в области 31 3300-2700 см<sup>-1</sup>. OH-группы углеводных заместителей проявляются в области 3600-3300 см<sup>-1</sup>.

С помощью ИК-спектров различают L- и D- аномеры моносахаридов и их производных. Для L-конфигурации связи C-O характерна полоса  $844 \pm 8$  см<sup>-1</sup>, для D-конфигурации - полоса  $891 \pm 7$  см<sup>-1</sup>. Сочетание ИК-спектроскопии с хроматографией в тонких слоях сорбента позволяет повысить избирательность качественного обнаружения веществ в смеси. Количество исследуемого соединения, которое может быть снято с тонкослойной хроматограммы, достаточно для снятия ИК-спектров малых образцов. Это позволяет использовать ИК-спектроскопию в анализе биологически активных веществ, содержание которых в растениях, как правило, невелико.

### ЯМР-спектроскопия

ЯМР-спектроскопия позволяет установить структуру молекул флавоноидов, их конформационное строение и распределение электронной плотности. В сочетании с УФ- и ИК-спектроскопией дает очень ценную информацию о структуре флавоноидов.

По числу сигналов в спектре ЯМР можно определить сколько типов протонов имеется в молекуле, а по положению сигналов установить тип протонов.

Вследствие низкой растворимости гликозидов в малополярных и неполярных растворителях, используемых для получения спектров, они в большинстве случаев исследуются в виде ацетильных или триметилсилиловых производных.

При помощи ПМР-спектров можно не только быстро и точно установить положение заместителей в кольцах А и В флавоноида, но и расшифровать строение углеводного компонента, определить конфигурацию гликозидной связи, природу и конформацию углевода.

### 1.5 Методы количественного определения флавоноидов

В настоящее время все большее распространение получают различные физико-химические и спектральные методы анализа, которые имеют ряд существенных преимуществ в сравнении, например, с гравиметрическими и титриметрическими методами, а именно быстрота и точность определения, обнаружение даже незначительных количеств и, что особенно важно, возможность выделения отдельных флавоноидов из растительного сырья. К таким методам относятся ВЭЖХ, хрома-тоспектрофотометрия, спектрофотометрия, фотоэлектроколориметрия, денситометрия с использованием хроматографии на бумаге и в тонком (закрепленном и незакрепленном) слое сорбента. Если необходимо применить хроматоспектрофотометрический метод, то хроматография (БХ, ТСХ, колоночная) используется как для очистки, так и для разделения суммы флавоноидов на отдельные компоненты.

Особенно ценным методом, отвечающим параметрам валидации, является ВЭЖХ. Внедрению этого метода в фармакопейный анализ во многом способствовали работы академика РАМН, профессора А.П. Арзамасцева, профессора Н.А. Тюкавкиной, профессора Г.Г. Запесочной, профессора И.А. Самылиной.

#### 1.5.1 Спектрофотометрический метод

Основан на определении оптической плотности раствора анализируемых веществ при определенной длине волны. Например, в случае плодов расторопши пятнистой, почек тополя используется прямая спектрофотометрия, но чаще всего из-за возможного вклада других ароматических веществ в оптическую плотность анализируемых растворов приходится прибегать к очистке суммы флавоноидов (без хроматографии) или к реакции комплексообразования. Для фармакопейного анализа обычно используют раствор алюминия хлорида (травя зверобоя продырявленного и др.).

Основываясь на данных Государственной Фармакопеи, более чем в 60 % лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды, количественное определение флавоноидов происходит посредством использования спектрофотометрического метода после проведения реакции комплексообразования. [23]

Например, для флавонов и флавонолов, в частности, для рутина характерны два максимума поглощения — коротковолновый (260 нм) и длинноволновый (362 нм), что может быть использовано не только с целью идентификации веществ, но в плане количественной оценки, особенно в условиях дифференциальной спектрофотометрии. При этом в присутствии

А1С13 образуется батохромный сдвиг длинноволновой полосы с образованием максимума при длине волны 412 нм (аналитическая длина волны). Этот подход является одним из самых используемых при анализе ЛРС, содержащего флавоноиды, поскольку позволяет минимизировать вклад сопутствующих веществ в оптическую плотность исследуемых растворов (см. траву зверобоя)

### 1.5.2 Другие методы количественного определения флавоноидов

#### Хроматоспектрофотометрический метод

Название метода обозначает, что в нем сочетаются два подхода — хроматографическая очистка суммы или индивидуальных флавоноидов и последующее спектрофотометрическое определение целевых веществ.

Хроматоспектрофотометрический метод может осуществляться в различных модификациях, но в целом их можно разделить на 2 группы:

1. Хроматографическое отделение флавоноидов от сопутствующих веществ методом ТСХ или БХ (например, определение рутина в ЛРС). Методики количественного определения рутина в траве гречихи посевной и бутонах софоры японской основаны на хроматоспектрофотометрии, причем в первом случае используется хроматография на бумаге, а во втором — ТСХ. В обоих случаях, используют прием отделения рутина от сопутствующих флавоноидов, а затем измеряют оптическую плотность элюата. В методиках используют ГСО рутина.

2. Хроматографическое отделение флавоноидов от сопутствующих веществ методом колоночной хроматографии (например, леспедеца копеечниковая). В основу разработанного метода количественного определения суммы флавоноидов в надземной части леспедецы положено

выделение суммы флавоноидов и определение оптической плотности раствора в этиловом спирте при длинноволновом максимуме поглощения (353 нм) с последующим расчетом процентного содержания по удельному показателю поглощения чистого гомоориетина(лютеолин-6-С-в-0-глюкопиранозид).

#### Фототокolorиметрический метод

Основан на реакции диазосочетания, а также на основе цветных реакций флавоноидов солями различных металлов(алюминия, циркония, титана, хрома, сурьмы), с лимонно-борным реактивом и на реакции восстановления цинком или магнием в кислой среде. Методы, имеющее в большей мере теоретическое значение:

1. Полярографический метод. Он основан на способности флавоноидов, например, флавонолов и флавонов, восстанавливаться на ртутно-капельном электроде.
2. Метод кислотно-основного титрования в неводных растворителях. Метод основан на способности флавоноидов проявлять слабо выраженных кислотные свойства (из-за наличия в молекуле фенольных гидроксильных, особенно 7-ОН-группы). Метод кислотно-основного титрования осуществляют в неводных растворителях — диметилформамиде, диметилсульфоксиде, ацетоне.
3. Денситометрический метод. Метод основан на цветных реакциях, причем он не требует дополнительных операций по выделению веществ с хроматограмм.

## Глава 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### 2.1 Объекты и методы исследования

Объектом исследования были выбраны водно-спиртовые экстракты надземной части лабазника вязолистного, получение путем извлечения оных с использованием высушенных корней, листьев и стеблей, измельченных до 0,5 мм. Данные экстракты содержат кверцетин, кемпферол, апигенин, лютеолин, таксифолин, изокверцитрин, авикулярин, спиреозид, рутин, которые являются биологически активными веществами и представляют практический интерес при дальнейшем определении количественного содержания флавоноидов в лекарственном растительном сырье.

### 2.2 Материалы и реактивы

В ходе экспериментов было выявлено, что масса в количестве 0,5 грамм высушенных надземных частей лабазника оптимальна для дальнейшего проведения опытов по установлению количественного содержания флавоноидов. Экстрагентом был выбран этиловый спирт в концентрации 70 процентов как наиболее оптимальный для проведения реакции экстракции. [29] Для получения возобновляемых и повторяемых результатов, 0,5 грамм высушенной надземной части лабазника вязолистного смешивали с 20 миллилитрами этилового спирта с концентрацией 70 процентов.

### 2.3 Метод извлечения флавоноидов

Жидкая экстракция флавоноидов из надземной высушенной и измельченной части лабазника вязолистного протекает при температурном нагреве в 90 градусов на кипящей водяной бане. Необходимо соблюдать постоянное и оптимальное отношение сырье:экстрагент, которое могло бы обеспечить стабильные и возобновляемые результаты, но при этом минимизировало

расходы сырья и экстрагента. В данном случае было установлено, что оптимальным соотношением является соотношение 1:40.

Для максимального извлечения экстрактивных веществ, но уменьшения извлечения примесных и балластных веществ, экстракцию проводили в течение 90 астрономических минут. Полученный экстракт разбавлению не подлежит. Охлажденный до комнатной температуры экстракт очищается от физических примесей с помощью колбы Бунзена и воронки Бюхнера.

#### 2.4 Метод проведения гидролиза гликозидов флавоноидов

Полученный экстракт содержит различные биологически активные вещества, среди которых присутствуют как флавоноиды (рутин, кверцетин, изокверцетин), так и их производные (гликозиды). Для полного количественного определения флавоноидов более чем в 60 процентах случаях используется реакция комплексообразования с хлоридом алюминия (III) после проведения гидролиза в жестких условиях с использованием УФ-спектрофотометрии. Гидролиз проводится с целью разложения гликозидов флавоноидов до агликона и сахарного остатка, а полученный агликон, являющийся чаще всего флавоноидом, отличается практической ценностью при дальнейшем количественном определении флавоноидов.

Побочным продуктом данной реакции является глюкоза, которая в дальнейшем не влияет на ход эксперимента.

Для успешного проведения гидролиза с высоким выходом целевого продукта необходимо взять 1 мл очищенного от физических примесей экстракта и разбавить его десятью миллилитрами этилового спирта с содержанием 70 процентов. Чтобы обеспечить жесткие условия протекания гидролиза,

необходимо в полученную смесь добавить концентрированную соляную кислоту в количестве 3 процентов от общего объема, то есть 0,3 миллилитра.

В дальнейшем гидролиз проводится по двум разным методикам. В первом случае гидролиз проводится соответственно стандартным условиям, то есть в течение двух часов на кипящей водяной бане при температуре 90 градусов. Во втором случае гидролиз проводится в условиях микроволнового облучения при различных температурных режимах и времени проведения реакции, а также при различной мощности, которая излучается микроволновым реактором. В таблице 1 приведены различные условия проведения гидролиза с их основными характеристиками.

Таблица 1 – Условия проведения гидролиза

Аппарат	Мощность излучения, Вт	Время проведения гидролиза, минуты
Микроволновой реактор	280	5
		10
		15
Микроволновой реактор	360	5
		10
		15
Микроволновой реактор	420	5
		10
		15
Водяная баня	-	120

В дальнейшем проводится количественный анализ полученных продуктов путем снятия спектров поглощения на УФ-спектрофотометре и оценка эффективности использования микроволнового облучения по сравнению со



стандартной методикой проведения гидролиза. Анализируемые растворы должны находиться в одинаковых разбавлениях для обеспечения чистоты эксперимента. В данном случае путем многократного подбора минимальной концентрации установлено, что оптимальное разведение полученных растворов составляет 1:5. Длина волны, при которой происходит поглощение в следствие наличия определяемых веществ, составляет 365 нанометров с погрешностью в 2 нанометра.

## 2.5 Метод количественного определения флавоноидов

Наиболее широко используемым методом количественного определения флавоноидов является метод снятия спектров поглощения комплексов флавоноидов после реакции комплексообразования с хлоридом алюминия (III) на УФ-спектрофотометре. Данный метод позволяет избавиться от негативного вклада балластных веществ и наиболее точно определить суммарное содержание полезных экстрактивных веществ.

При этом происходит bathochromный сдвиг максимумов полос поглощения на 50-60 нанометров, что позволяет однозначно определить количественное содержание флавоноидов. Длина волны максимумов поглощения комплексов флавоноидов приходится на 410-420 нанометров.

Полученные после проведения гидролиза растворы подлежат обработке хлоридом алюминия (III). Для этого берется 1 миллилитр гидролизованного раствора и смешивается с 3 % раствором хлорида алюминия (III). При этом важно соблюдать соотношение 1:5. После чего в течение 30 минут происходит реакция комплексообразования. Полученные смеси подлежат проведению количественного анализа с помощью УФ-спектрофотометра. Данные, снятые в ходе спектрофотометрического

анализа, сравниваются между собой для определения эффективности проведенной реакции комплексообразования.

## Глава 4. ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ

### 4.1 Общая характеристика НИР

В последние десятилетия люди активно используют лекарственные средства, полученные из растительного сырья, что обусловлено многолетним опытом использования фитопрепаратов и доверием населения к этому виду препаратов. Фитопрепараты отличаются малой токсичностью, отсутствием побочных эффектов при длительном применении.

Ограниченный ассортимент ноотропных лекарственных средств синтетического происхождения и широкое распространение невротических расстройств диктует необходимость создания фитопрепаратовноотропного действия из растений флоры России.

Лабазник вязолистный – многолетнее травянистое растение семейства Розовые. Данное растение успешно культивируется на экспериментальной базе Сибирского ботанического сада Томского государственного университета. В медицине широкое распространение получили экстракты лабазника вязолистного, содержащие различные флавоноиды, такие как кверцетин, которые успешно применяются при лечении судорог и болей, а в сборах - при энурезе, неврастении, шизофрении.

В состав лабазникавязолистного входят флавоноиды, обладающие противовоспалительными, антиаллергическими, антивирусными свойствами. По антиоксидантной активности флавоноиды превосходят витамины С, Е и каротиноиды.

Цель данного исследования - определение оптимальных условий проведения количественного анализа флавоноидов из лабазника вязолистного в условиях МВО.

4.2 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

#### 4.2.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Результатом исследования нашей работы являются флавоноиды, полученные из конкретного ЛРС, а значит целевым рынком являются люди, которые проходят курс лечения фитопрепаратов на основе флавоноидов, выделенных из ЛРС –лабазника вязолистного.

Однако флавоноиды могут служить также и исходным сырьём для изготовления медицинских препаратов на их основе, поэтому в качестве потребителей могут выступать различные учреждения, такие как: аптеки, клиники, больницы, фармацевтические предприятия, выпускающие продукцию с использованием лабазника вязолистного.

#### 4.1.2 Анализ конкурентных технических решений

Результатом исследования нашей работы являются флавоноиды, полученные экстракцией из лабазника вязолистного, количественный анализ которых был проведен в условиях микроволнового облучения, поэтому нам стоит рассмотреть конкурентов, производящих лекарственные препараты на основе флавоноидов, а именно «Кверцетин» и «Флакумин».

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле:

$$K = \sum B_i \cdot B_i \quad (4.1)$$

где: K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;  $B_i$  – вес показателя (в долях единицы);  $B_i$  – балл i-го показателя.

Целесообразно анализ конкурентных технических решений проводить с помощью оценочной карты таблица 1.

Таблица 1 – Оценочная карта сравнения для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкуренто-способность		
		Б <sub>ф</sub>	Б <sub>к1</sub>	Б <sub>к2</sub>	К <sub>ф</sub>	К <sub>к1</sub>	К <sub>к2</sub>
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Выход продукта	0,1	5	4	4	0,5	0,4	0,4
2. Энергоемкость процессов	0,1	5	4	4	0,4	0,4	0,4
4. Использование МВО	0,2	5	1	1	1,5	1,2	1,2
Экономические критерии оценки эффективности							
5. Цена	0,2	2	4	4	0,2	0,4	0,4
6. Конкурентоспособность продукта	0,2	4	5	5	0,4	0,5	0,5
7. Финансирование научной разработки	0,2	5	5	5	0,5	0,5	0,5
Итого:	1	26	23	23	4,3	4	4

Анализ был проведен сравнительно с двумя основными конкурентами: конкурент 1, конкурент 2.

Критерии для сравнения и оценки ресурсоэффективности и ресурсосбережения, приведенные в табл. 1, подбираются, исходя из выбранных объектов сравнения с учетом их технических и экономических особенностей разработки, создания и эксплуатации.

Позиция разработки и конкурентов оценивается по каждому показателю экспертным путем по пятибалльной шкале, где 1 – наиболее слабая позиция, а 5 – наиболее сильная. Веса показателей, определяемые экспертным путем, в сумме должны составлять 1.

#### 4.1.3 SWOT-анализ

SWOT – (Strengths – сильные стороны, Weaknesses – слабые стороны, Opportunities – возможности и Threats – угрозы) – это комплексный анализ научно-исследовательского проекта. SWOT – анализ применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта и состоит из нескольких этапов.

В первом этапе рассматривает сильные и слабые стороны проекта, а также выявлении возможностей и угроз.

Результаты первого этапа SWOT-анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты первого этапа SWOT-анализа

	<b>Сильные стороны научно-исследовательского проекта:</b> <b>С1.</b> Экологичность технологии <b>С2.</b> Простота эксплуатации <b>С3.</b> Более низкая стоимость производства по сравнению с другими технологиями <b>С4.</b> Минимальные затраты электроэнергии <b>С5.</b> Минимальное количество противопоказаний и побочных эффектов	<b>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</b> <b>Сл1.</b> Ограниченность ресурса, в связи с сезонным произрастанием травы лабазник вязолистный.
<b>Возможности:</b> <b>В1.</b> Использование инновационной инфраструктуры ТПУ <b>В2.</b> Повышение стоимости конкурентных разработок		
<b>Угрозы:</b> <b>У1.</b> Отсутствие спроса на новые технологии производства <b>У2.</b> Несвоевременное финансовое обеспечение научного исследования <b>У3.</b> Ограничения на экспорт технологии		

На втором этапе SWOT – анализа рассматривает соответствия сильных и слабых сторон научно-исследовательского проекта внешним условиям окружающей среды. Это соответствие или несоответствие должны помочь выявить степень необходимости проведения стратегических изменений.

В рамках данного этапа необходимо построить интерактивную матрицу проекта. Ее использование помогает разобраться с различными комбинациями взаимосвязей областей матрицы SWOT. Каждый фактор помечается либо знаком «+» (означает сильное соответствие сильных сторон возможностям), либо знаком «-» (что означает слабое соответствие); «0» – если есть сомнения в том, что поставить «+» или «-».

Интерактивные матрицы проекта представлены в таблицах 3,4,5 и 6.

Таблица 3– Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и возможности»

Сильные стороны проекта						
Возможности проекта		C1	C2	C3	C4	C5
	B1	+	+	+	+	0
	B2	+	+	+	+	0

Таблица 4 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и возможности»

Слабые стороны проекта		
Возможности проекта		Сл1
	B1	-
	B2	-

Таблица 5 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и угрозы»

Сильные стороны проекта						
Угрозы		C1	C2	C3	C4	C5
	У1	+	+	+	+	-
	У2	-	-	-	-	-
	У3	+	+	+	-	-

Таблица 6 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и угрозы»

Слабые стороны проекта		
Угрозы		Сл1
	У1	-
	У2	-
	У3	-

Таким образом, в рамках третьего этапа может быть составлена итоговая матрица SWOT-анализа, представленная в таблице 7.

Таблица 7 – Итоговая матрица SWOT-анализа

	<b>Сильные стороны научно-исследовательского проекта:</b> <b>С1.</b> Экологичность технологии <b>С2.</b> Простота эксплуатации <b>С3.</b> Более низкая стоимость производства по сравнению с другими технологиями <b>С4.</b> Минимальные затраты электроэнергии <b>С5.</b> Минимальное количество противопоказаний и побочных эффектов	<b>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</b> <b>Сл1.</b> Ограниченность ресурса, в связи с сезонным произрастанием травы лабазника вязолистного
<b>Возможности:</b> <b>В1.</b> Использование инновационной инфраструктуры ТПУ <b>В2.</b> Появление спроса на продукт	<b>Сила и возможности:</b> <b>СВ1.</b> Разработка нового метода выделения флавоноидов из лабазника вязолистного в условиях МВО <b>СВ2.</b> Появится большой спрос на ЛВ за счет быстрого анализа продукта	<b>Слабость и возможности:</b> <b>СлВ1.</b> Приобретение необходимого оборудования для проведения опытов <b>СлВ2.</b> Изучение данного метода анализа
<b>Угрозы:</b> <b>У1.</b> Отсутствие спроса на новые технологии производства <b>У2.</b> Несвоевременное финансовое обеспечение	<b>Сила и угрозы:</b> <b>СУ1.</b> Анализ данным методом ускорит получение качественного продукта, тем самым увеличив спрос на внутреннем рынке	<b>Слабость и угрозы:</b> <b>СлУ1.</b> Разработка рекламной компании на данный продукт <b>СлУ2.</b> Разработка мероприятий по обеспечению



научного исследования <b>УЗ.</b> Ограничения на экспорт технологии	<b>СУ2.</b> Благодаря низким затратам на пробоподготовку возможны различные варианты подготовки исследуемых объектов к анализу <b>СУЗ.</b> Прибыль на внутреннем рынке	финансирования <b>СЛУЗ.</b> Повышение прибыль посредством оптимизации себестоимости продукта
---	---	---

**Вывод:** В результате SWOT-анализа выявлено, что для данного проекта характерен баланс сильных и слабых сторон, а также возможностей и угроз. При правильно разработанной концепции продвижения проекта, можно внедрить используемый метод количественного определения на рынок фармацевтической промышленности.

#### 4.3 Планирование научно-исследовательских работ

##### 4.3.1 Структура работ в рамках научного исследования

Для выполнения научно-исследовательской работы формируется рабочая группа, в состав которой входят: бакалавр – Александров А.О., научный руководитель – Губа Г.Я., консультант по экономической части (ЭЧ) – Рыжакина Т. Г. и консультант по части социальной ответственности (СО) – Винокурова Г.Ф. выпускной квалификационной работы. Необходимо составить перечень этапов и работ в рамках проведения научного исследования и провести распределение исполнителей по видам работ (таблица 8).

Таблица 8 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

№ этапа	Название этапа	Содержание работ	Должность исполнителя
1	Введение	Разъяснение темы НИР, основных направлений деятельности по осуществлению НИР	Губа Г.Я. (доцент ОХИ ИШПР)
2	Литературный обзор	Обзор существующих методик и теоретических	Александров А.О. (студент)

		основ методов исследования флавоноидов из лабазника вязолистного	
3	Теоретический анализ	Разработка плана НИР, выбор методики и техники выполнения	Губа Г.Я. (доцент ОХИ ИШПР) Александров А.О. (студент)
4	Постановка задачи исследования	Постановка задачи на эксперимент, предсказание возможных результатов	Губа Г.Я. (доцент ОХИ ИШПР)
5	Экспериментальная часть	Исследование влияния различных факторов на количественный анализ флавоноидов из лабазника вязолистного (время проведения гидролиза, мощность, концентрация экстракта, разбавление)	Александров А.О. (студент)
6	Результаты и обсуждения	Оценка эффективности полученных результатов и определение целесообразности проведения ВКР	Губа Г.Я. (доцент ОХИ ИШПР) Александров А.О. (студент)
7	Разработка технической документации и проектирование	Оценка эффективности применения анализа	Рыжакина Т. Г. (доцент ОСГН.) Александров А.О. (студент)
8		Разработка социальной ответственности по теме	Винокурова Д.Ф. (доцент ООД) Александров А.О. (студент)
9	Оформление отчета по НИР	Разработка презентации, дипломной работы и раздаточного материала	Александров А.О. (студент)

#### 4.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ

Трудоемкость выполнения научного исследования оценивается экспертным путем в человеко-днях и носит вероятностный характер, т.к. зависит от множества трудно учитываемых факторов.

Таблица 9 - Рабочая группа проекта

ФИО, основное место работы, должность	Роль в проекте	Функции	Трудозатраты, час.
Доцент ОХИ ИШПР Губа Г.Я.	Руководитель НИР	Контроль над ходом выполнения проекта, консультации по поводу проведения эксперимента, получения и анализа результатов НИР	240
Студент Александров А.О.	Исполнитель	Выполнение проекта (проведение эксперимента, получение и анализ результатов НИР)	480
Доцент ОСГН Рыжакина Т. Г.	Консультант по экономической части	Оценка эффективности применения анализа	10
Доцент ООД Винокурова Г.Ф.	Консультант по части социальной ответственности	Разработка социальной ответственности по теме	10
Итого:			740

Трудозатраты были рассчитаны на основании следующих данных: проект выполняется 4 месяца, руководитель проекта принимает участие 3 раза в неделю на протяжении 5-х часов, инженер дипломник работает в среднем 5 дней в неделю по 6 часов.

#### 4.3.3 Разработка графика проведения научного исследования

Для удобства построения графика, длительность каждого из этапов работ из рабочих дней следует перевести в календарные дни. Для этого необходимо воспользоваться следующей формулой:

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{\text{кал}}, \quad (4.2)$$

где:  $T_{ki}$  – продолжительность выполнения  $i$ -й работы в календарных днях;

$T_{pi}$  – продолжительность выполнения  $i$ -й работы в рабочих днях;

$k_{\text{кал}}$  – коэффициент календарности.

Коэффициент календарности определяется по следующей формуле:

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}} = \frac{365}{365 - 118 - 27} = \frac{365}{220} = 1.659 \quad (4.3)$$

где:  $T_{\text{кал}}$  – количество календарных дней в году;

$T_{\text{вых}}$  – количество выходных дней в году;

$T_{\text{пр}}$  – количество праздничных дней в году.

Календарный план проекта представлен в таблице 10.

Таблица 10 – Календарный план проекта

Название работы	Длительность, рабочие дни	Длительность, календарные дни	Количество исполнителей	Должность исполнителя
Введение	5	15	1	Губа Г.Я. (доцент ОХИ ИШПР)
Литературный обзор	10	10	1	Александров А.О. (студент)
Теоретический анализ	10	10	2	Губа Г.Я. (доцент ОХИ ИШПР) Александров А.О. (студент)
Постановка задачи исследования	5	8	1	Губа Г.Я. (доцент ОХИ ИШПР)
Экспериментальная часть	30	46	1	Александров А.О. (студент)
Результаты и обсуждения	10	15	2	Губа Г.Я. (доцент ОХИ ИШПР) Александров А.О. (студент)
Оценка эффективности применения анализа	5	9	2	Рыжакина Т. Г. (доцент ОСГН) Александров А.О. (студент)

Разработка социальной ответственности по теме	5	9	2	Винокурова Д.Ф. (доцент ООД) Александров А.О. (студент)
Разработка презентации и раздаточного материала	3	8	1	Александров А.О. (студент)
Оформление дипломной работы	10	23	1	Александров А.О. (студент)
Итого:	93	153		

Диаграмма Ганта – горизонтальный ленточный график, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ. Диаграмма Ганта для данного исследования представлена в таблице 11.

Таблица 11 – Календарный план-график проведения НИОКР

Виды работ	Исполнитель	Кол-во дней	Продолжительность работ								
			март			апрель			май		
Выбор направления исследований	Научный руководитель, бакалавр	11									
Изучение литературы	бакалавр	10									
Подбор и изучение материалов	Научный руководитель, бакалавр	2									
Литературный обзор	бакалавр	10									
Экспериментальная часть	бакалавр	30									
Результаты и обсуждения	Научный руководитель, бакалавр	10									
Оценки эффективности применения анализа	Руководитель по ЭЧ, Александров А.О.,	5									

Разработка социальной ответственности	Руководитель по СО, Александров А.О.	5										
Разработка презентации и раздаточного материала	бакалавр	3										
Оформление	бакалавр	10										

Условные обозначения в таблице 11:  - Бакалавр,  - Руководитель

#### 4.4 Бюджет научно-технического исследования (НТИ)

##### 4.4.1 Расчет материальных затрат НТИ

Бюджет затрат на выполнение НТИ составляется с целью проведения данной работы. Затраты на НТИ рассчитываются по статьям калькуляции, которые включают две группы затрат прямые затраты и накладные затраты.

Расчет стоимости материальных затрат производился по действующим прейскурантам и ценам с учетом НДС. В стоимость материальных затрат включили транспортно-заготовительные расходы (3 – 5 % от цены).

Результаты расчета затрат на сырье, материалы и покупные изделия в процессе проведения НИР представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Материальные затраты

Наименование	Ед. из м.	Количество			Цена за ед., руб.			Затраты на материалы, (Зм), руб.		
		Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3
Этиловый спирт	кг	50	70	100	200	200	200	10000	14000	12000
ЛРС	кг	1	2	2	2000	2000	2000	2000	4000	4000
Колба коническая, мерная, 50 мл	шт	6	9	11	160	160	160	960	1440	1760
Колба круглодонная, 100 мл	шт	2	4	4	179	179	179	358	716	716
Мерный цилиндр, 100 мл	шт	1	2	2	250	250	250	250	500	500
Пипетка	уп. ак.	3	3	3	70	70	70	210	210	210
Стакан мерный, 250 мл	шт	3	4	4	50	50	50	150	200	200
Дозатор пипеточный	шт	1	3	2	2500	2500	2500	2500	7500	5000
Фильтровальная бумага	уп. ак.	3	5	7	170	170	170	510	850	1190
<b>Итого:</b>								<b>16938</b>	<b>29416</b>	<b>25576</b>

##### 4.4.2 Расчет затрат на оборудование для научно-экспериментальных работ

В данную статью включены все затраты, связанные с приобретением специального оборудования (приборов, контрольно-измерительной аппаратуры, устройств и механизмов), необходимого для проведения работ по данной теме. Определение стоимости спецоборудования производили по



действующим прейскурантам с учетом НДС. При приобретении спецоборудования учтены затраты по его доставке и монтажу в размере 15 % от его цены. Все расчеты по приобретению спецоборудования и оборудования, используемого для каждого исполнения темы, сводятся в таблице 13.

Таблица 13 – Затраты на оборудование для научно-экспериментальных работ

№, п/п	Наименованиеоборудования	Количество единиц оборудования, шт			Цена единицы оборудования, руб.			Общая стоимость оборудования, руб.		
		Исп. 1	Исп. 2	Исп. 3	Исп. 1	Исп. 2	Исп. 3	Исп. 1	Исп. 2	Исп. 3
1	Микроволновой реактор DAEWOO ELECTRONICS KOR-6L15	1			4570			4570		
2	Весы аналитические (класс точности 0,0001 г., Россия)	1			19000			19000		
Итого:								23570		

Стоимость оборудования, используемого при выполнении НИР имеющегося на кафедре ФАХ стоимостью свыше 40 тыс. рублей, учитывалось в виде амортизационных отчислений. Расчет затрат по статье «Амортизация оборудования» представлена в таблице 14.

Таблица 14 - Расчет затрат по статье «Амортизация оборудования»

Наименование оборудования	Цена оборудования, руб.	Эксплуатация оборудования, количество лет	Амортизация, руб.
Спектрофотометр (Япония)	870000	5	174000
<b>Итого:</b>			<b>174000</b>

#### 4.4.3 Расчет основной заработной платы

Основная заработная плата ( $Z_{осн}$ ) руководителя (инженера) от предприятия (при наличии руководителя от предприятия) рассчитывается по следующей формуле:

$$З_{\text{осн}} = З_{\text{дн}} \cdot T_{\text{раб}}, \quad (4.4)$$

где:  $З_{\text{осн}}$  – основная заработная плата одного работника;  $T_{\text{р}}$  – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн. ;  $З_{\text{дн}}$  – среднедневная заработная плата работника, руб.

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$З_{\text{дн}} = \frac{З_{\text{м}} \cdot М}{F_{\text{д}}}, \quad (4.5)$$

где:  $З_{\text{м}}$  – месячный должностной оклад работника, руб.;

$М$  – количество месяцев работы без отпуска в течение года: при отпуске в 24 раб. дня  $М = 11,2$  месяца, 5-дневная неделя; при отпуске в 48 раб. дней  $М = 10,4$  месяца, 6-дневная неделя;

$F_{\text{д}}$  – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб. дн.

Таблица 15 – Баланс рабочего времени за 2018 год

Показатели рабочего времени	Руководитель	Бакалавр
Календарное число дней	365	365
Количество нерабочих дней		
- выходные дни	118	118
- праздничные дни		
Потери рабочего времени		
- отпуск	24	-
- невыходы по болезни		
Действительный годовой фонд рабочего времени	223	247

Месячный должностной оклад работника:

$$З_{\text{м}} = З_{\text{тс}} \cdot (1 + k_{\text{пр}} + k_{\text{д}}) \cdot k_{\text{р}}, \quad (4.6)$$

где:  $З_{\text{тс}}$  – заработная плата по тарифной ставке, руб.;

$k_{\text{пр}}$  – премиальный коэффициент, равный 0,3 (т.е. 30% от  $З_{\text{тс}}$ );

$k_d$  – коэффициент доплат и надбавок составляет примерно 0,2 – 0,5

$k_p$  – районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска).

Расчет основной заработной платы приведен в таблице 16.

Таблица 16 – Расчет основной заработной платы

Категория	$Z_{мс}$ , руб.	$k_d$	$k_p$	$Z_m$ , руб.	$Z_{дн}$ , руб.	$T_p$ , раб. дн.	$Z_{осн}$ , руб.
Руководитель							
ППСЗ	28000	0,35	1,3	60060	6108	11,7	71464
Бакалавр							
ППС1	2200	0,35	1,3	4719	480	7,6	3648
Консультант по ЭЧ							
ППСЗ	22450	0,35	1,3	48155	4897	4,1	20078
Консультант по СО							
ППСЗ	33240	0,35	1,3	71300	7251	4,4	31904

Общая заработная плата исполнителей работы представлена в таблице 17.

Таблица 17 – Общая заработная плата исполнителей

Исполнители	$Z_{осн}$ , руб.	$Z_{доп}$ , руб.	$Z_{зп}$ , руб.
Научный руководитель	71464	10005	81469
Бакалавр	3648	510,7	4158,7
Консультант по ЭЧ	20078	2811	22889
Консультант СО	31904	4466,6	36370,6

#### 4.4.4 Отчисления во внебюджетные фонды (социальные отчисления)

Отчисления на социальные нужды составляет 30% от суммы заработной платы всех сотрудников. Отчисления на социальные нужды составляет: отчисления в пенсионный фонд 22%, отчисление на социальное страхование 2,9%, отчисление на медицинское страхование 5,1%. 0,5% страхование жизни, от несчастного случая.

Рассчитываем затраты на отчисление на социальные нужды по формуле:

$$Z_{о.с.н.} = 0,3 \cdot (Z_{осн.рук.} + Z_{осн.инж.}), \quad (4.7)$$

где:  $Z_{о.с.н.}$  – затраты на отчисления на социальные нужды, руб.

$$З_{о.с.н.} = 0,3 \cdot (71464 + 3648 + 20078 + 31904) = 38128,2.$$

Отчисления во внебюджетные фонды представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Отчисления во внебюджетные фонды

Исполнители	Основная заработная плата, руб.	Дополнительная заработная плата, руб.
Научный руководитель	71464	10005
Бакалавр	3648	510,7
Консультант по ЭЧ	20078	2811
Консультант СО	31904	4466,6
Коэффициент отчислений во внебюджетные фонды	0,3	
<b>ИТОГО:</b>	<b>38128,2</b>	

#### 4.4.5 Накладные расходы

Накладные расходы учитывают прочие затраты организации, не попавшие в предыдущие статьи расходов: печать и ксерокопирование графических материалов, оплата услуг связи, электроэнергии, транспортные расходы и т.д. Их величина определяется по следующей формуле:

$$З_{накл} = k_{нр} \cdot (\text{сумма статей } 1 \div 5), (4.8)$$

где:  $k_{нр}$  – коэффициент, учитывающий накладные расходы.

Величину коэффициента накладных расходов  $k_{нр}$  допускается взять в размере 16%.

#### 4.4.6 Формирование бюджета затрат НТИ

Рассчитанная величина затрат научно-исследовательской работы является основой для формирования бюджета затрат проекта, который при формировании договора с заказчиком защищается научной организацией в качестве нижнего предела затрат на разработку научно-технической продукции. Определение бюджета затрат на научно-исследовательский проект приведен в таблице 19.

Таблица 19 – Расчет бюджета затрат НТИ

Наименование статьи	Сумма, руб.			Примечание
	Исп.1	Исп.2	Исп.3	
1. Материальные затраты НТИ	16938	29416	25576	Табл.12
2. Затраты на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ	23570	23570	23570	Табл.13
3. Затраты по основной заработной плате исполнителей темы	127094	127094	127094	Табл.16
4. Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы	17793,3	17793,3	17793,3	Табл.17
5. Отчисления во внебюджетные фонды	38128,2	38128,2	38128,2	Табл.18
6. Накладные расходы	35763,76	37760,24	37625,84	16 % от суммы ст.1-5
7. Бюджетзатрат НТИ	259287,26	273761,74	272787,34	Сумма ст. 1-6

4.5 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования

Определение эффективности происходит на основе расчета интегрального показателя эффективности научного исследования. Его нахождение связано с определением двух средневзвешенных величин: финансовой эффективности и ресурсоэффективности.

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп.}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\text{max}}}, \quad (4.9)$$

где:  $I_{\text{финр}}^{\text{исп.}i}$  – интегральный финансовый показатель разработки;

$\Phi_{pi}$  – стоимость i-го варианта исполнения;

$\Phi_{\text{max}}$  – максимальная стоимость исполнения научно-исследовательского проекта (в т.ч. аналоги).

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки отражает соответствующее численное увеличение бюджета затрат разработки в размах (значение больше единицы), либо соответствующее численное удешевление стоимости разработки в размах (значение меньше единицы, но больше нуля).

Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования можно определить следующим образом:

$$I_{pi} = \sum a_i \cdot b_i, \quad (4.10)$$

где:  $I_{pi}$  – интегральный показатель ресурсоэффективности для  $i$ -го варианта исполнения разработки;  $a_i$  – весовой коэффициент  $i$ -го варианта исполнения разработки;  $b_i^a, b_i^p$  – балльная оценка  $i$ -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания;  $n$  – число параметров сравнения.

Результаты по расчету интегрального показателя ресурсоэффективности представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Объект исследования Критерии	Весовой коэффициент параметра	Исп.1	Исп.2	Исп. 3
1. Выход продукта	0,15	5	4	4
2. Энергоемкость процессов	0,15	5	4	4
4. Использование МВО	0,20	5	1	1

$$I_{\text{рисп.1}} = 5 \cdot 0,15 + 5 \cdot 0,15 + 5 \cdot 0,20 = 2,5;$$

$$I_{\text{рисп.2}} = 4 \cdot 0,15 + 4 \cdot 0,15 + 1 \cdot 0,20 = 1,4;$$

$$I_{\text{рисп.3}} = 4 \cdot 0,15 + 4 \cdot 0,15 + 1 \cdot 0,20 = 1,4.$$

Интегральный показатель эффективности разработки ( $I_{финр}^P$ ) и аналога ( $I_{финр}^a$ ) определяется на основании интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя по формуле:

$$I_{исп.1} = \frac{I_{p-исп1}}{I_{финр}^{исп.1}}, \quad I_{исп.2} = \frac{I_{p-исп2}}{I_{финр}^{исп.2}} \dots \quad (4.11)$$

Сравнение интегрального показателя эффективности текущего проекта и аналогов позволит определить сравнительную эффективность проекта. Сравнительная эффективность проекта:

$$\mathcal{E}_{cp} = \frac{I_{исп.1}}{I_{исп.2}} \quad (4.12)$$

где  $\mathcal{E}_{cp}$  – сравнительная эффективность проекта;  $I_{мэ}^P$  – интегральный показатель разработки;  $I_{мэ}^a$  – интегральный технико-экономический показатель аналога.

Сравнение значений интегральных показателей эффективности позволяет понять и выбрать более эффективный вариант решения поставленной в бакалаврской работе технической задачи с позиции финансовой и ресурсной эффективности. Наглядно данное сравнение представлено в таблице 21.

Таблица 21 – Сравнительная эффективность разработки

№ п/п	Показатели	Исп.1	Исп.2	Исп.3
1	Интегральный финансовый показатель разработки	0,994	0,998	1
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки	4,5	4	4
3	Интегральный показатель эффективности	4,658	4,008	4
4	Сравнительная эффективность вариантов исполнения	1	0,860	0,859

**Вывод:** в результате проведенной работы была создана конкурентоспособная разработка, отвечающая современным требованиям в области ресурсоэффективности и ресурсосбережения.